

DOCKET NO.: 266174US0PCT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Stefan LAUFER, et al.

SERIAL NO.: NEW U.S. PCT APPLICATION

FILED: HERewith

INTERNATIONAL APPLICATION NO.: PCT/EP03/09191

INTERNATIONAL FILING DATE: August 19, 2003

FOR: SUBSTITUTED ISOXAZOLE DERIVATIVES AND THEIR USE IN PHARMACEUTICS

REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119
AND THE INTERNATIONAL CONVENTIONCommissioner for Patents
Alexandria, Virginia 22313

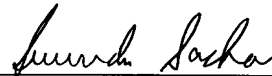
Sir:

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicant claims as priority:

<u>COUNTRY</u>	<u>APPLICATION NO</u>	<u>DAY/MONTH/YEAR</u>
Germany	102 37 883.5	19 August 2002

Certified copies of the corresponding Convention application(s) were submitted to the International Bureau in PCT Application No. PCT/EP03/09191. Receipt of the certified copy(s) by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

Respectfully submitted,
OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,
MAIER & NEUSTADT, P.C.



Norman F. Oblon
Attorney of Record
Registration No. 24,618
Surinder Sachar
Registration No. 34,423

Customer Number

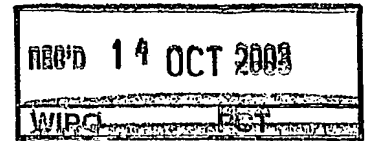
22850

(703) 413-3000
Fax No. (703) 413-2220
(OSMMN 08/03)

Rec'd PCT/PTO 17 FEB 2005



173



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 102 37 883.5
Anmeldetag: 19. August 2002
Anmelder/Inhaber: Merckle GmbH Chemisch-pharmazeutische Fabrik,
Ulm/DE
Bezeichnung: Substituierte Isoxazolderivate und ihre Verwendung
in der Pharmazie
IPC: C 07 D, A 61 K

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 11. September 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Stanschus

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Substituierte Isoxazolderivate und ihre Verwendung in der Pharmazie

Die vorliegende Erfindung betrifft substituierte Isoxazolderivate mit immunmodulierender und die Cytokinfreisetzung hemmender Wirkung, pharmazeutische Mittel, welche diese Verbindungen enthalten, und ihre Verwendung in der Pharmazie.

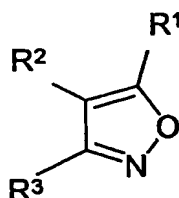
Pharmakologisch wirksame Imidazol- und Isoxazolverbindungen mit antiinflammatorischer Aktivität sind bereits bekannt. Beispielsweise sind derartige Imidazolverbindungen in der WO 93/14081 beschrieben. Die WO 99/03837 beschreibt substituierte Isoxazole, welche die Synthese einer Anzahl inflammatorischer Cytokine hemmen.

Trotz der bekannten Verbindungen besteht weiterhin ein Bedarf nach Verbindungen mit antiinflammatorischer Wirkung, die die Cytokinfreisetzung hemmen.

Die Aufgabe der Erfindung ist die Bereitstellung solcher Verbindungen.

Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass bestimmte substituierte Isoxazolderivate hohe immunmodulierende und/oder die Cytokinfreisetzung hemmende Wirksamkeit aufweisen.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind daher die substituierten Isoxazolderivate der Formel I

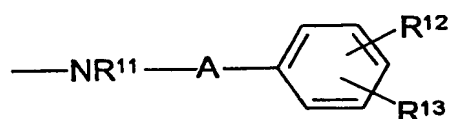


worin

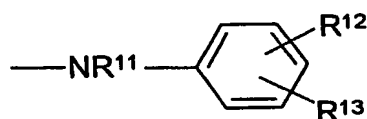
R¹ ausgewählt ist unter

- a) H;
- b) C₁-C₆-Alkyl, das 1 oder 2 Substituenten aufweisen kann, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter NR⁴R⁵ und OR⁶;
- 5 c) einem aromatischen oder nicht-aromatischen Heterocyclus mit 5 oder 6 Ringatomen, der 1, 2 oder 3 Heteroatome aufweist, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter N, O und S, wobei der Heterocyclus 1 oder 2 Substituenten aufweisen kann, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter C₁-C₆-Alkyl, Halogen, CF₃, OR⁶, NR⁷R⁸, -NR⁹COR¹⁰, einem Rest der Formel

10



oder einem Rest der Formel

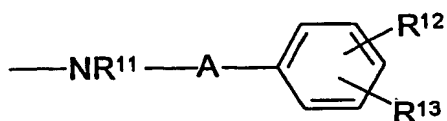


15

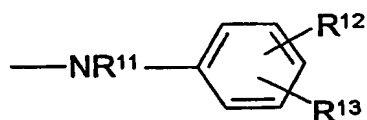
- d) Phenyl, das 1, 2 oder 3 Substituenten aufweisen kann, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter NR⁷R⁸, OR⁶, C₁-C₆-Alkyl, Halogen, CF₃, CN, NO₂ und CO₂R⁶;
- e) Phenyl-C₁-C₄-alkyl;
- 20 f) C₃-C₈-Cycloalkyl; und
- g) NR⁷R⁸;

25

einer der Reste R² und R³ für einen aromatischen heterocyclischen Rest mit 5 oder 6 Ringatomen steht, der 1 oder 2 Heteroatome aufweist, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter N, O und S, wobei der aromatische heterocyclische Rest 1 oder 2 Substituenten aufweisen kann, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter C₁-C₆-Alkyl, Halogen, CF₃, OR⁶, NR⁷R⁸, NR⁹COR¹⁰, einem Rest der Formel



oder einem Rest der Formel



5 und

der zweite der Reste R^2 und R^3 für Aryl steht, das gegebenenfalls durch ein Halogenatom substituiert ist;

10 R^4 und R^5 unabhängig voneinander für H, $\text{C}_1\text{--C}_6\text{--Alkyl}$, Phenyl oder Phenyl- $\text{C}_1\text{--C}_4\text{--alkyl}$ stehen oder zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen gesättigten 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus mit 1 oder 2 Heteroatomen bilden, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter N und O;

15 R^6 , R^7 und R^8 unabhängig voneinander für H oder $\text{C}_1\text{--C}_6\text{--Alkyl}$ stehen;

R^9 für H, $\text{C}_1\text{--C}_6\text{--Alkyl}$ oder Benzyl steht;

20 R^{10} für $\text{C}_1\text{--C}_6\text{--Alkyl}$, $\text{C}_3\text{--C}_6\text{--Cycloalkyl}$ oder Phenyl, das 1 oder 2 Substituenten aufweisen kann, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter $\text{C}_1\text{--C}_6\text{--Alkyl}$, $\text{C}_1\text{--C}_6\text{--Alkoxy}$ und Halogen, steht;

R^{11} für H, $\text{C}_1\text{--C}_6\text{--Alkyl}$ oder Phenyl- $\text{C}_1\text{--C}_4\text{--alkyl}$ steht;

25 R^{12} und R^{13} unabhängig voneinander für H, Halogen, $\text{C}_1\text{--C}_6\text{--Alkyl}$ oder $\text{C}_1\text{--C}_6\text{--Alkoxy}$ stehen; und

A für geradkettiges oder verzweigtes $\text{C}_1\text{--C}_6\text{--Alkyl}$ steht; und

die optischen Isomere und physiologisch verträglichen Salze davon.

Der Ausdruck „Alkyl“ (auch in Verbindung mit anderen Gruppen, wie Phenylalkyl, Alkoxy etc.) umfasst geradkettige und verzweigte Alkylgruppen mit 1 bis 6, vorzugsweise 1 bis 4 C-Atomen, wie Methyl, Ethyl, n- und i-Propyl, n-, i- und t-Butyl, sec-Butyl, n-Pentyl und n-Hexyl.

Der Ausdruck „Aryl“ umfasst aromatische Ringsysteme wie Phenyl oder Naphthyl.

Der Ausdruck „Halogen“ steht für ein Fluor-, Chlor-, Brom- oder Iodatom, insbesondere ein Fluor- oder Chloratom.

C₃-C₆-Cycloalkylgruppen sind Cyclopropyl, Cyclobutyl und insbesondere Cyclopentyl und Cyclohexyl.

Nicht-aromatische heterocyclische Reste können gesättigt oder ungesättigt sein. Bevorzugt sind Piperidinyll, Piperazinyll, Pyranlyll, Morpholinyl oder Pyrrolidinyl, wobei der Piperidinyllrest durch 1, 2, 3 oder 4 C₁-C₄-Alkylgruppen, insbesondere Methylgruppen, substituiert sein kann. Wenn R⁴ und R⁵ für einen gesättigten Heterocyclus stehen, handelt es sich vorzugsweise um die gleichen Reste.

Bevorzugte aromatische heterocyclische Reste sind 2-, 3- oder 4-Pyridyl, Pyrimidinyl, Pyrrolyl, Imidazolyl, Oxazolyl, Isoxazolyl, Furyl, Thienyl oder Thiazolyl. Der heterocyclische Rest kann wie oben angegeben substituiert sein.

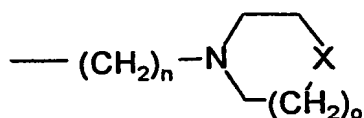
Phenyl-C₁-C₄-alkyl bedeutet insbesondere Benzyl oder Phenylethyl.

Wenn R² oder R³ für einen aromatischen heterocyclischen Rest steht, ist der Pyridylrest, insbesondere 2-Pyridyl, bevorzugt.

Wenn R¹ für einen aromatischen oder nicht-aromatischen heterocyclischen Rest steht, ist dieser bevorzugt über ein Kohlenstoffatom an das Isoxazol gebunden. Vorzugsweise handelt es sich um einen aromatischen Rest, insbesondere um Fu-

ryl oder Pyridyl, wobei 4-Pyridyl bevorzugt ist. Der Pyridylrest kann unsubstituiert oder durch $\text{NR}^9\text{COR}^{10}$ substituiert sein, insbesondere in 2-Position.

Wenn R^1 für $\text{C}_1\text{-C}_6$ -Alkyl steht, das mit NR^4R^5 substituiert ist, wobei R^4 und R^5 zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen gesättigten Heterocyclus bilden, handelt es sich vorzugsweise um einen Rest der Formel



Worin X für CH_2 , O oder N steht, n für 1 bis 6 steht und o für 0 oder 1 steht.

Bevorzugt sind Verbindungen der Formel I, wobei einer der Reste R^2 und R^3 für halogensubstituiertes Phenyl steht und der zweite der Reste R^2 und R^3 für Pyridyl oder substituiertes Pyridyl steht.

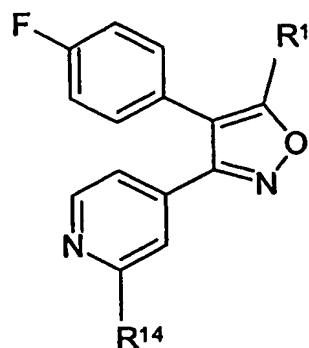
Weiterhin bevorzugt sind Verbindungen der Formel I, wobei R^2 für halogensubstituiertes, insbesondere 4-substituiertes, Phenyl und R^3 für gegebenenfalls substituiertes Pyridyl, insbesondere 4-Pyridyl oder substituiertes 4-Pyridyl, steht.

Wenn R^2 oder R^3 für substituiertes 4-Pyridyl steht, befindet sich der Substituent oder einer der Substituenten bevorzugt in 2-Position.

Weiterhin bevorzugt sind Verbindungen der Formel I, wobei R^2 für gegebenenfalls substituiertes Pyridyl, insbesondere 4-Pyridyl oder substituiertes 4-Pyridyl, steht und R^3 für Halogen-substituiertes, insbesondere 4-substituiertes, Phenyl steht.

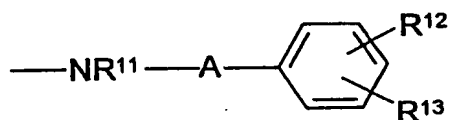
Eine bevorzugte Ausführungsform sind Verbindungen der Formel Ia

6



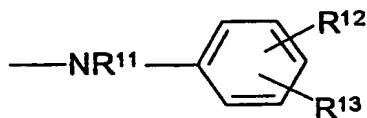
1a

worin R^{14} die oben angegebenen Bedeutungen besitzt und insbesondere für H, Halogen, OR^6 , NR^7R^8 , NR^9COR^{10} , einen Rest der Formel



a)

oder einen Rest der Formel

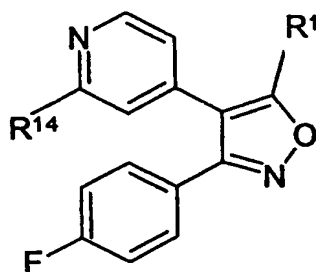


b)

steht, wobei R^6 bis R^{13} und A die oben angegebenen Bedeutungen besitzen.

R^1 steht bei den Verbindungen der Formel 1a vorzugsweise für C_1 - C_6 -Alkyl, einen aromatischen heterocyclischen Rest mit 5 oder 6 Ringatomen, der 1 oder 2 Heteroatome aufweist, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter N und O, wobei der Heterocyclus 1 oder 2 Substituenten aufweisen kann, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter Halogen, NR^7R^8 und NR^9COR^{10} , wobei R^6 bis R^{10} die oben angegebenen Bedeutungen besitzen, Alkyl, das durch NR^4R^5 und/oder OR^6 substituiert ist, Phenyl, das durch C_1 - C_6 -Alkoxy und/oder NR^7R^8 substituiert ist, C_3 - C_6 -Cycloalkyl oder NR^4R^5 .

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform sind die Verbindungen der Formel 1b



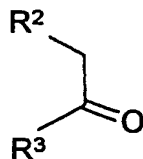
Ib

worin R^{14} die oben im Zusammenhang mit der Formel Ia genannten Bedeutungen besitzt. R^1 steht bei den Verbindungen der Formel Ib vorzugsweise für H, C_1 - C_6 -Alkyl, Phenyl, das gegebenenfalls durch Halogen, insbesondere in 4-Position, substituiert ist oder NR^4R^5 .

Soweit die erfindungsgemäßen Verbindungen Asymmetriezentren aufweisen, sind Racemate sowie optischen Isomere (Enantiomere, Diastereomere) umfasst.

Die physiologisch verträglichen Salze können im vorliegenden Fall Säureadditions- oder Basenadditionssalze sein. Für Säureadditionssalze werden anorganische Säuren wie Salzsäure, Schwefelsäure oder Phosphorsäure oder organische Säuren wie Weinsäure, Citronensäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Äpfelsäure, Mandelsäure, Ascorbinsäure, Gluconsäure und dergleichen, eingesetzt.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen erfolgt ausgehend von einer Verbindung der Formel



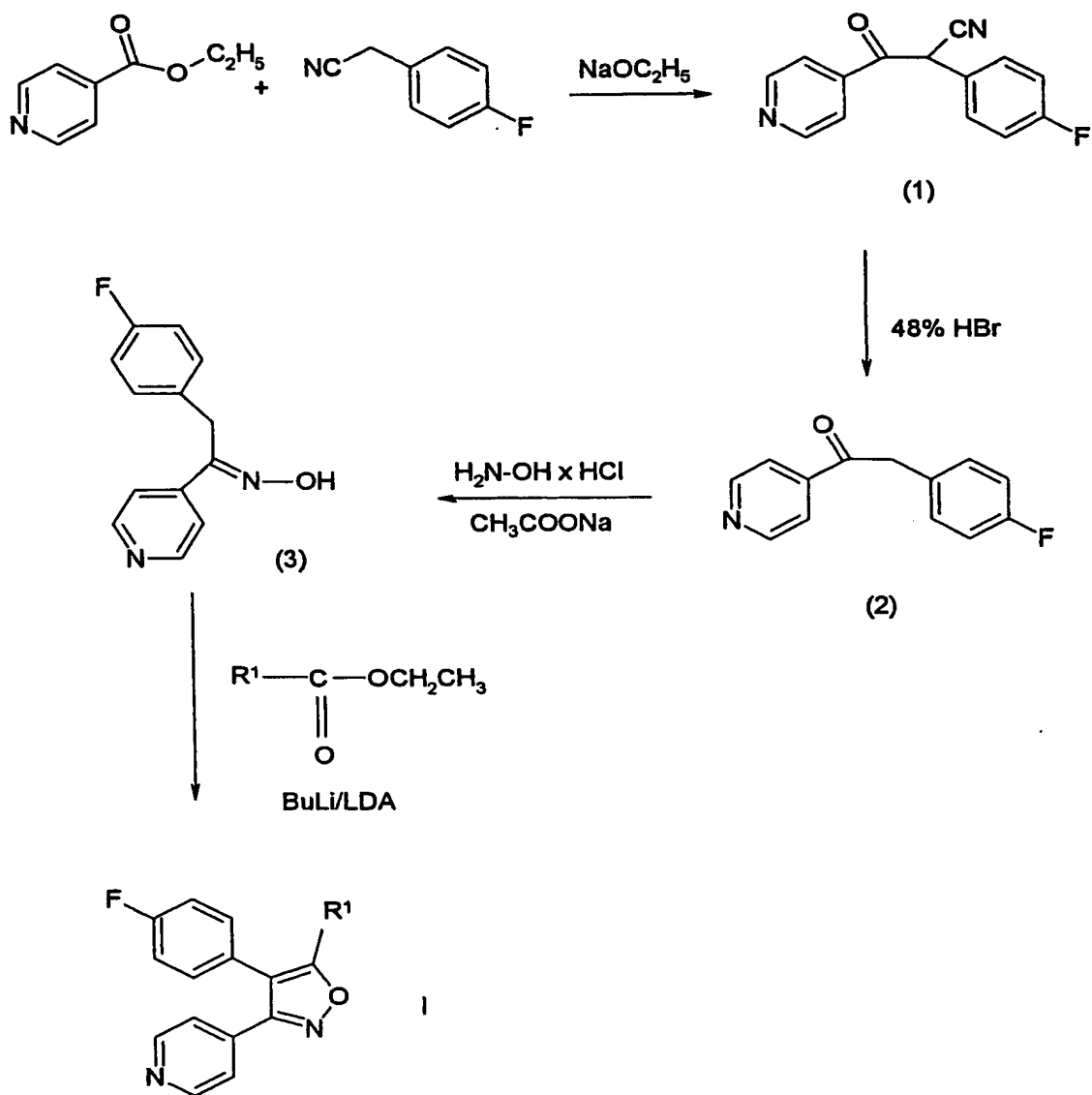
und wird nachfolgend am Beispiel von R^2 = 4-Pyridyl oder 4-Fluorphenyl und R^3 = 4-Fluorphenyl bzw. 4-Pyridyl erläutert.

Die Herstellung der Verbindungen der Formel I, bei denen R^2 für einen Arylrest steht, erfolgt gemäß Schema 1. Die Herstellung der Verbindung (3) und ihre weitere Umsetzung zu den Verbindungen der Formel I ist in den Beispielen näher erläutert. Auf diese Weise lassen sich die entsprechenden Verbindungen herstellen, bei denen R^1 für Alkyl, substituiertes Alkyl, Phenyl, substituiertes Phenyl, Phenylalkyl, Cycloalkyl und Heterocyclyl steht.

Die entsprechenden regioisomeren Verbindungen lassen sich gemäß Schema 2 herstellen. Auch diese Umsetzungen sind in den Beispielen näher erläutert.

Die Herstellung der Verbindungen der Formel I, bei denen R^2 für einen aromatischen heterocyclischen Rest und R^1 für H oder NR^7R^8 steht, erfolgt gemäß Schema 3 und 4. Die Reaktionsbedingungen sind in den Beispielen erläutert.

Die Herstellung von Verbindungen der Formel I, bei denen R^2 für einen Amino- oder Amido-substituierten aromatischen heterocyclischen Rest steht, ist am Beispiel des 4-Pyridylrests in Schema 5 erläutert. Die Umsetzungen sind in Beispiel 1 beschrieben.

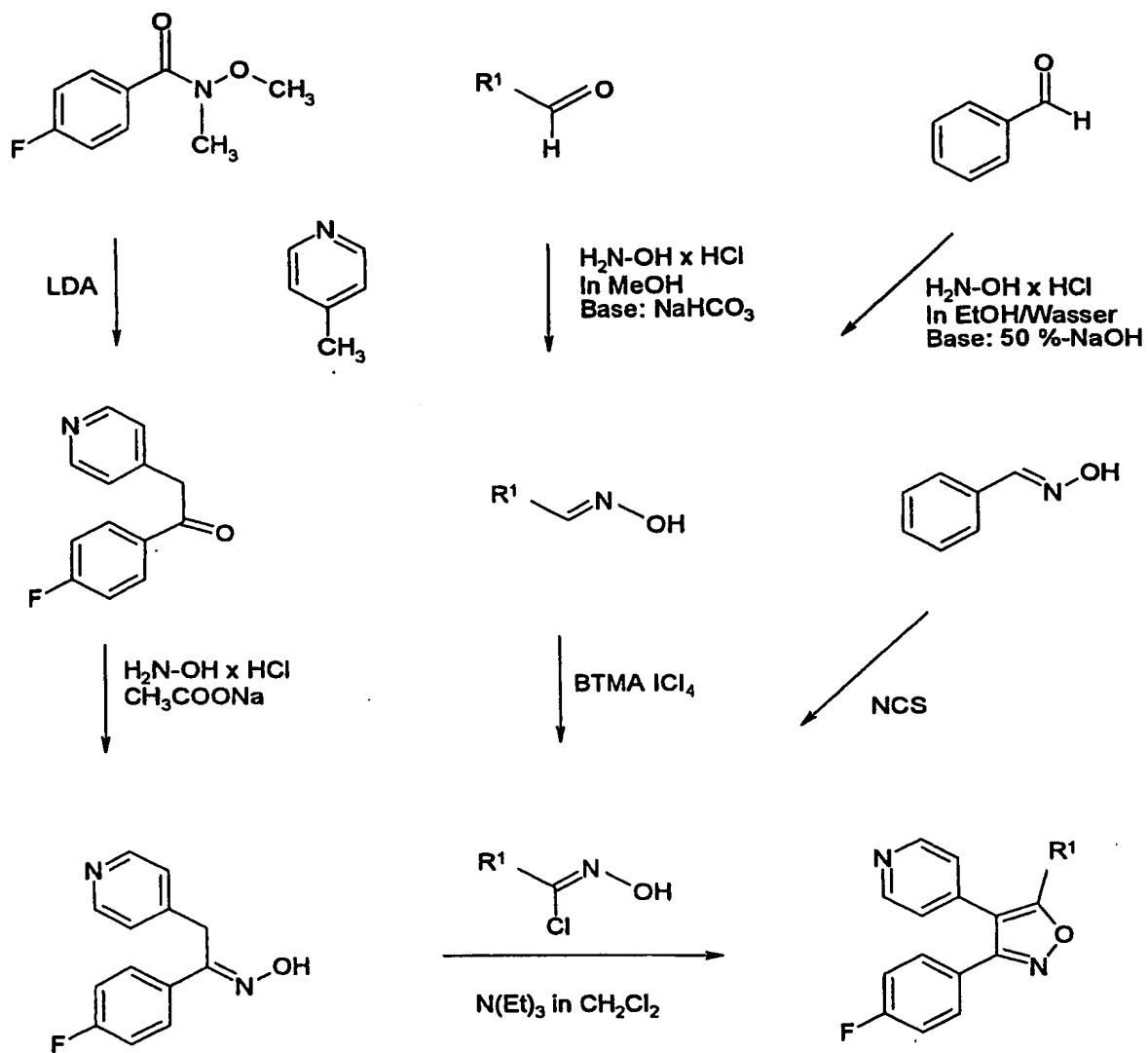
Schema 1:

5

BuLi = n-Butyllithium

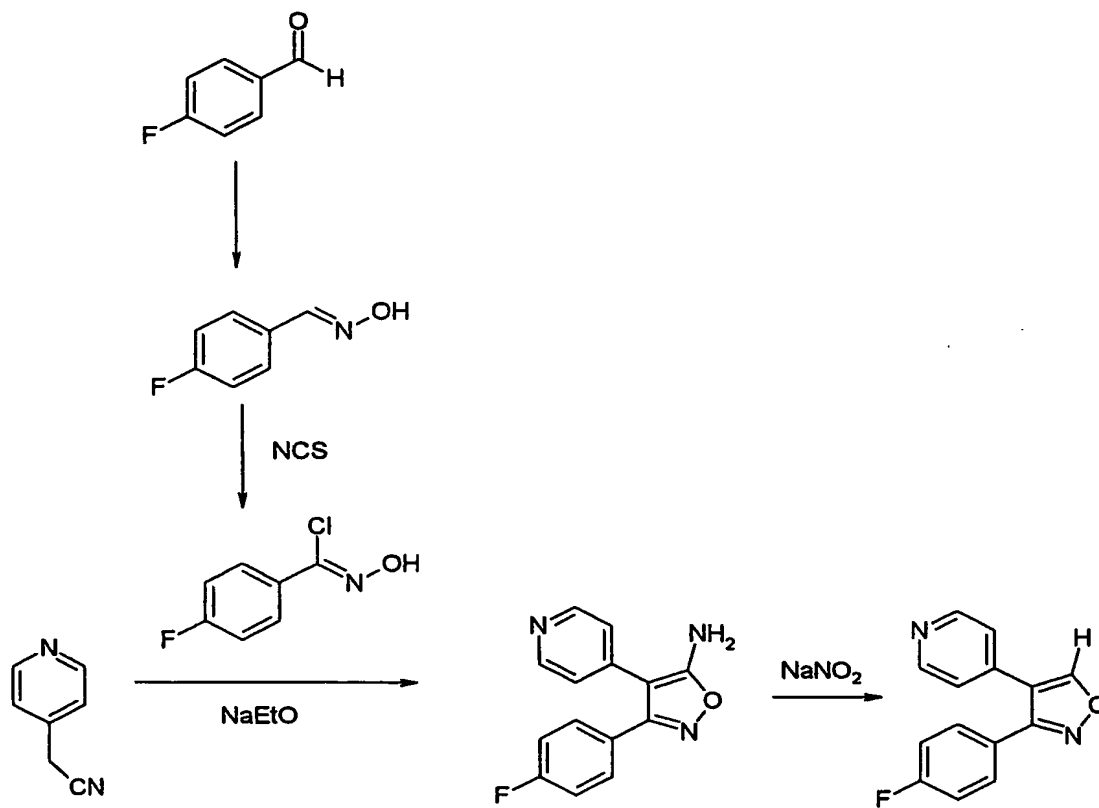
LDA = Lithium-diisopropylamin

10

Schema 2

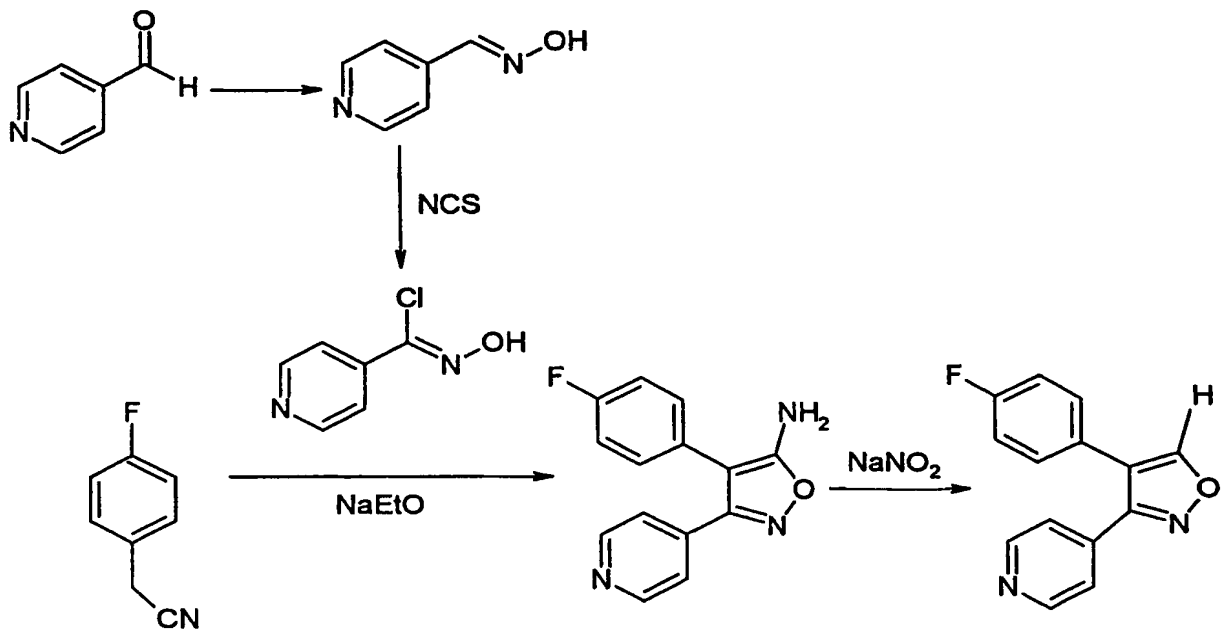
NCS = N-Chlorsuccinimid

BTMA ICl₄ = Benzyltrimethylammonium-tetrachloriodat

Schema 3

5

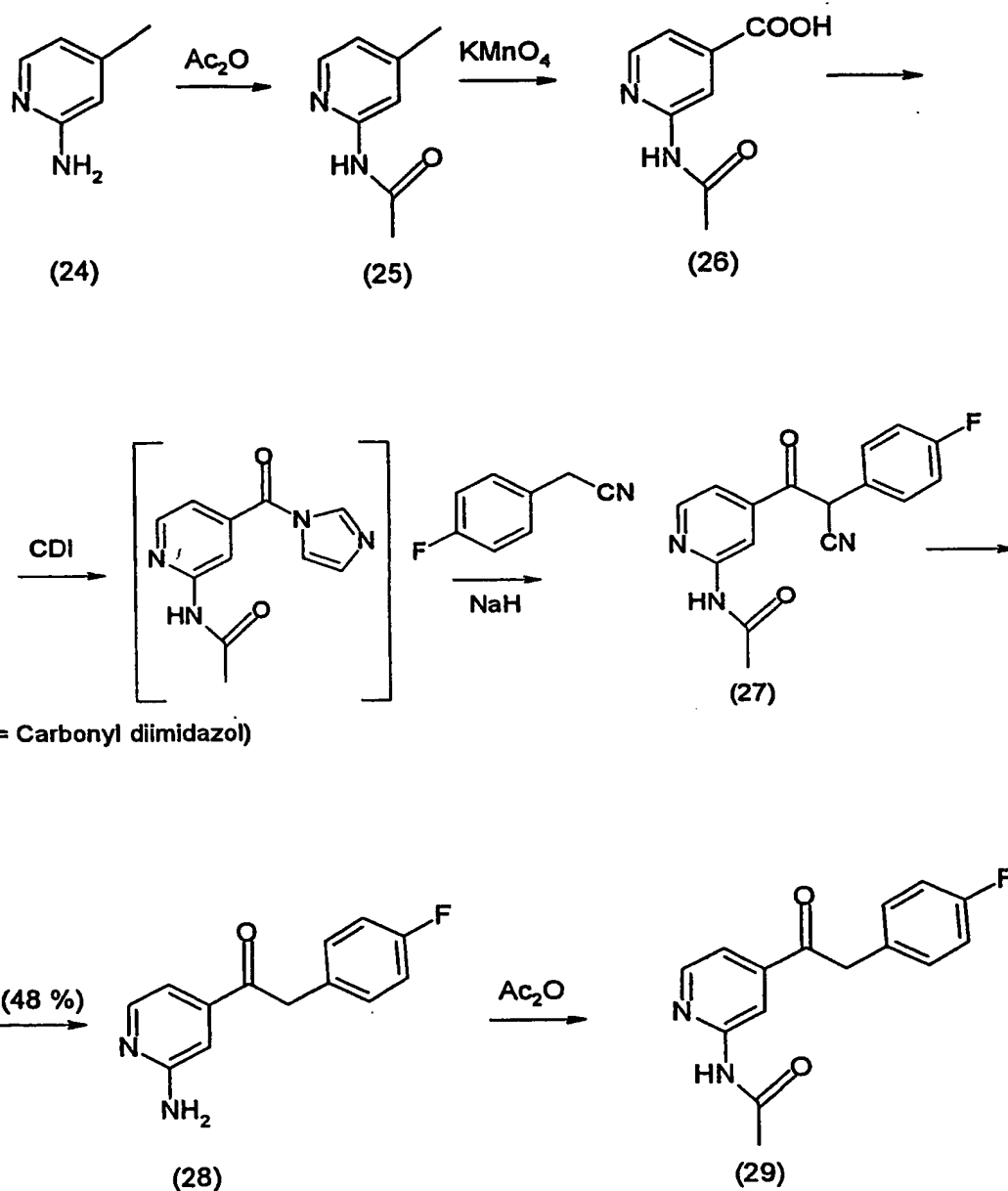
NCS = N-Chlorsuccinimid

Schema 4

5

NCS = N-Chlorsuccinimid

10

Schema 5

Die Aminogruppe der Ausgangsverbindung 2-Amino-γ-picolin (**24**) wird geschützt, z. B. durch Einführen einer Acetylgruppe mit Acetanhydrid. Anschließend erfolgt die Oxidation der Methylgruppe der Verbindung (**25**) zur Carboxylgruppe, z. B. mit Kaliumpermanganat in wässrigem Medium bei 20 bis 90 °C.

Die Umsetzung der erhaltenen Pyridincarbonsäure (26) mit 4-Fluorphenylacetonitril zu Verbindung (27) und die anschließende Abspaltung der Nitrilgruppe werden gemäß Schema 1 durchgeführt. Dabei wird auch die Acetylgruppe an der Aminogruppe der Pyridinverbindung unter Bildung der Verbindung (28) abgespalten.

Im nächsten Schritt wird erneut die Aminogruppe geschützt, z. B. durch Einführen einer Acetylgruppe mit Acetanhydrid. Die erhaltene Verbindung (29) wird gemäß Schema 1 in die Verbindungen der Formel I überführt.

Um den gewünschten Substituenten in die Pyridylgruppe einzuführen, wird zunächst die Acetylgruppe hydrolytisch, z. B. mit wässriger Säure, abgespalten, wobei man die Aminoverbindung (35) erhält. Die Einführung eines Acylrestes erfolgt durch Acylierung, insbesondere mit dem entsprechenden Säurechlorid $R^{10}COCl$ in einem inerten Lösungsmittel, wie einem Ether, z. B. Tetrahydrofuran, Dioxan, oder einem chlorierten Kohlenwasserstoff, z. B. Methylenchlorid oder 1,2-Dichlorethan etc. Die Acylierung erfolgt im Allgemeinen in Anwesenheit einer Base, z. B. Triethylamin, in mindestens äquivalenter Menge.

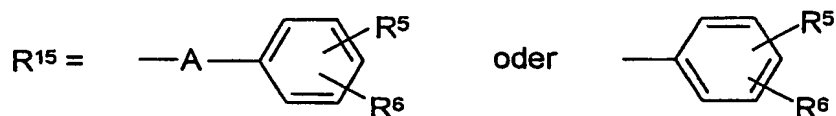
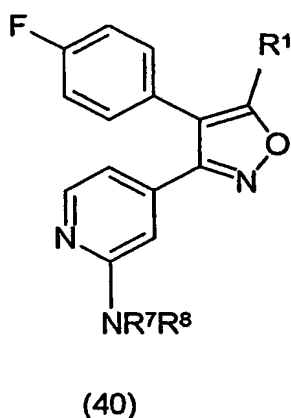
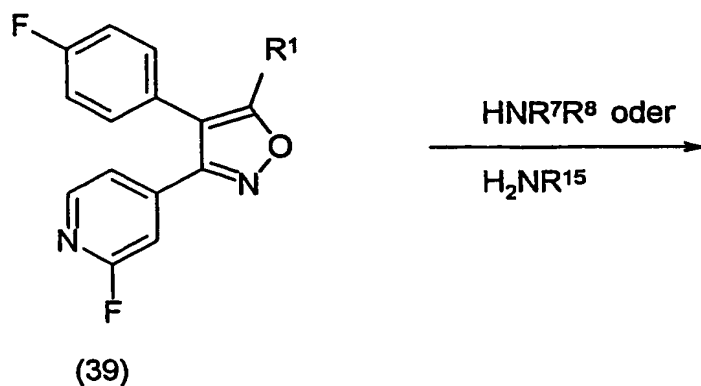
Zur Herstellung der substituierten Aminverbindungen wird mit einem Moläquivalent $R-Br$, wobei R den betreffenden einzuführenden Rest bedeutet, in einem inerten Lösungsmittel, wie Dimethylformamid in Anwesenheit einer Base, wie Natriumhydrid, zu der entsprechenden monoalkylierten bzw. monophenylierten Verbindung umgesetzt. Der Rest R^{11} wird gewünschtenfalls durch Umsetzung mit einem Moläquivalent $R^{11}-Br$ unter den genannten Bedingungen eingeführt.

Alternativ können die Verbindungen, bei denen der Pyridinrest einen Aminosubstituenten aufweist, ausgehend von dem entsprechenden 5-(Halogeno-pyridin-4-yl)isoxazol hergestellt werden. Das Verfahren ist am Beispiel 2-substituierter Pyridinverbindungen mit $R^1 = p-F-Phenyl$ in Schema 5 erläutert.

Die Umsetzung erfolgt zweckmäßigerweise in dem jeweiligen Amin, das man vorzugsweise in einer Menge von 5 bis 20 Moläquivalenten pro Moläquivalent der

Verbindung (39) verwendet. Die Reaktionstemperatur liegt im Allgemeinen im Bereich von 100 bis 200 °C. Gewünschtenfalls kann auch ein inertes Lösungsmittel, wie Dioxan, Dimethylformamid etc. verwendet werden.

- 5 Die Ausgangsverbindungen (39) können nach den oben beschriebenen Verfahren hergestellt werden.

Schema 5:

5 Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeigen *in vitro* und *in vivo* immunmodulierende und die Cytokinfreisetzung hemmende Wirkung. Cytokine sind Proteine wie TNF- α und IL- β , die eine wichtige Rolle bei zahlreichen inflammatorischen Erkrankungen spielen. Die erfindungsgemäßen Verbindungen eignen sich durch ihre die Cytokinfreisetzung hemmende Wirkung zur Behandlung von Erkrankungen, die im

10 Zusammenhang mit einer Störung des Immunsystems stehen, insbesondere immunologisch vermittelte entzündliche Erkrankungen. Sie eignen sich beispielsweise zur Behandlung von Autoimmunerkrankungen, Krebs, rheumatoider Arthritis, Gicht, septischem Schock, Osteoporosis, neuropathischem Schmerz, HIV-Ausbreitung, HIV-Demenz, viraler Myokarditis, insulinabhängiger Diabetes, Perio-

dontalerkrankungen, Restenosis, Alopezie, T-Zell-Depletion bei HIV-Infektionen oder AIDS, Psoriasis, akuter Pankreatitis, Abstoßungsreaktionen bei allogenen Transplantaten, allergisch bedingter Lungenentzündung, Artherosklerose, Multipler Sklerose, Kachexie, Alzheimer Erkrankung, Schlaganfall, Iktus, Colitis ulcerosa, Morbus Crohn, Inflammatory-Bowel-Disease (IBD), Ischämie, kongestive Herzinsuffizienz, Lungen-Fibrose, Hepatitis, Glioblastom, Guillain-Barre-Syndrom, systematischer Lupus erythematodes, Adult-respiratory-distress-Syndrom (ARDS) und Atemnotsyndrom.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können entweder als einzelne therapeutische Wirkstoffe oder als Mischungen mit anderen therapeutischen Wirkstoffen verabreicht werden. Die Verbindungen können alleine verabreicht werden, im Allgemeinen werden sie jedoch in Form pharmazeutischer Mittel dosiert und verabreicht, d. h. als Mischungen der Wirkstoffe mit geeigneten pharmazeutischen Trägern oder Verdünnungsmitteln. Die Verbindungen oder Mittel können oral oder parenteral verabreicht werden, vorzugsweise werden sie in oralen Dosierungsformen gegeben.

Die Art des pharmazeutischen Mittels oder Trägers bzw. des Verdünnungsmittels hängt von der gewünschten Verabreichungsform ab. Orale Mittel können beispielsweise als Tabletten oder Kapseln vorliegen und können übliche Exzipienzien enthalten, wie Bindemittel (z. B. Sirup, Akazia, Gelatine, Sorbit, Tragant oder Polyvinylpyrrolidon), Füllstoffe (z. B. Lactose, Zucker, Maisstärke, Calciumphosphat, Sorbit oder Glycin), Gleitmittel (z. B. Magnesiumstearat, Talcum, Polyethylenglycol oder Siliciumdioxid), desintegrierende Mittel (z. B. Stärke) oder Netzmittel (z. B. Natriumlaurylsulfat). Flüssige Oralpräparate können in Form wässriger oder öligiger Suspensionen, Lösungen, Emulsionen, Sirupe, Elixiere oder Sprays und dergleichen sein. Sie können auch als Trockenpulver vorliegen, das zur Rekonstitution mit Wasser oder einem anderen geeigneten Träger aufbereitet wird. Derartige flüssige Präparate können übliche Additive, beispielsweise Suspendiermittel, Geschmacksstoffe, Verdünnungsmittel oder Emulgatoren enthalten. Für die parenterale Verabreichung kann man Lösungen oder Suspensionen mit üblichen pharmazeutischen Trägern einsetzen.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen oder Mittel können an Säuger (Mensch oder Tier) in einer Dosis von etwa 0,5 mg bis 100 mg pro kg Körpergewicht pro Tag verabreicht werden. Sie können in einer Einzeldosis oder in mehreren Dosen gegeben werden. Das Wirkungsspektrum der Verbindungen als Inhibitoren der Cytokinfreisetzung wurde anhand nachstehender Testsysteme untersucht (C. Donat und S. Laufer in Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem. 333, Suppl. 1, 1 - 40, 2000).

In-vitro-Testverfahren mit humanem Vollblut

Proben aus humanem Kalium-EDTA-Vollblut (à 400 µl) werden mit der Testsubstanz versetzt und 15 min bei 37 °C in einem CO₂-Inkubator (5 % CO₂; 95 % feuchtigkeitsgesättigte Luft) vorinkubiert. Danach werden die Proben 4 Stunden mit 1 µg/ml LPS (*E. coli* 026:B6) bei 37 °C in einem CO₂-Inkubator (5 % CO₂; 95 % feuchtigkeitsgesättigte Luft) stimuliert. Die Reaktion wird gestoppt, indem die Proben auf Eis gestellt, mit DPBS-Puffer versetzt und anschließend 15 min bei 1000*g zentrifugiert werden. Anschließend wird die Menge IL-1β und TNFα im Plasmaüberstand mittels ELISA ermittelt.

In-vitro-Testverfahren mit PBMCs

- 1) Aus 1:3 verdünntem humanen Kalium-EDTA-Vollblut werden mittels Dichtegradientenzentrifugation (Histopaque®-1,077) die mononukleären Zellen (PBMCs) isoliert. Diese werden 2-mal mit DPBS-Puffer gewaschen, in Makrophagen-SFM- Medium resuspendiert und auf eine Zellzahl von 1*10⁶ Zellen/ml eingestellt.

Die erhaltene PBMCs-Suspension (à 390 µl Proben) wird mit der Testsubstanz 15 min bei 37 °C in einem CO₂-Inkubator (5 % CO₂; 95 % feuchtigkeitsgesättigte Luft) vorinkubiert. Danach werden die Proben 4 Stunden mit jeweils 1 µl/ml LPS (*E. coli* 026:B6) bei 37 °C in einem CO₂-Inkubator (5 % CO₂; 95 % feuchtigkeitsgesättigte Luft) stimuliert. Die Reaktion wird gestoppt, indem die Proben auf Eis gestellt, mit DPBS-Puffer versetzt und anschließend 12 min bei

15880*g zentrifugiert werden. Anschließend wird die Menge IL-1 β und TNF α im Plasmaüberstand mittels ELISA ermittelt.

2) Kinase-Assay

5

10

15

20

Mikro-Titerplatten wurden mit 50 μ l ATF2-Lösung (20 μ g/ml) eine Stunde bei 37 °C beschichtet. Nach dreimaligem Waschen mit Wasser wurden 50 μ l Kinase-Mischung (50 mM tris-HCl 10 mM MgCl₂, 10 mM β -Glyzerolphosphat, 10 μ g/ml BSA, 1 mM DTT, 100 μ M ATP, 100 μ M Na₃VO₄, 10 ng aktiviertes p38 α) mit oder ohne Inhibitor in die Vertiefungen gegeben und 1 Stunde bei 37 °C inkubiert. Nach dreimaligem Waschen wurden die Platten mit Phosphor-ATF-2-Antikörper eine Stunde bei 37 °C inkubiert. Nach erneutem dreimaligem Waschen wurde mit alkalischer Phosphatase markiertes Ziege-anti-Kaninchen-IgG eine Stunde bei 37 °C zugegeben (um den Antikörper phosphoryliertes Protein-Substrat-Komplex festzuhalten). Nach dreimaligem Waschen wurde die alkalische Phosphatase-Substratlösung (3 mM 4-NPP, 50 mM NaHCO₃, 50 mM MgCl₂, 100 μ l/Vertiefung) 1,5 Stunden bei 37 °C zugegeben. Die Bildung von 4-Nitrophenolat wurde bei 405 nm unter Verwendung eines Mikrotiterplatten-Lesers gemessen. Die IC₅₀-Werte wurden berechnet.

Die Ergebnisse der *in-vitro*-Tests sind in der nachstehenden Tabelle 1 gezeigt.

Tabelle 1: Testergebnisse

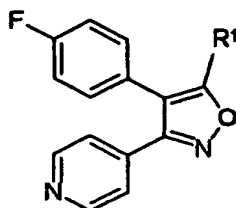
Verbindung Nr.	IC ₅₀ [mol/l · 10 ⁻⁵] p 38
1	6,75
2	-
3	3,0
4	0,4
5	2,2
6	2,2
7	2,8
8	2,7
9	1
10	1
11	1
12	-
13	1,2
14	¹⁾
15	-
16	$2,4 \cdot 10^{-2}$
17	$2,0 \cdot 10^{-2}$

¹⁾ 43,6 % Inhibierung bei 10⁻⁵ mol/l

Beispiele

Beispiel 1

5 Herstellung der 4-(4-Fluorphenyl)-3-(4-pyridinyl)-isoxazole der Formel:



10 2-Cyano-2-(4-fluorophenyl)-1-(4-pyridinyl)ethen-1-ol * HCl (1)

Zu einer 30%igen Lösung von Natriumethanolat in Ethanol (159 g/0,7 mol) und 100 ml Ethanol werden 4-Fluorphenylacetonitril (67,7 g/0,5 mol) und Isonicotinsäureethylester (75,8 g/0,5 mol) zugetropft. Die Mischung wird 30 min bei Siedetemperatur refluxiert und dann mit 1000 g Eiswasser versetzt. Beim Ansäuern mit

15 HCl_{conc.} auf pH 1 fällt die Titelverbindung als gelber Niederschlag aus, der abfiltriert, mit H₂O gewaschen und im Vakuum über P₂O₅ getrocknet wird.

Ausbeute: 82,94 g/69,1 %

20

Schmelzpunkt: 225 °C

2-(4-Fluorophenyl)-1-(4-pyridinyl)ethanon (2)

25

Die Lösung von 1 (50 g/0,208 mol) in 48%iger Bromwasserstoffsäure (350 ml) wird 20 h refluxiert. Der Niederschlag 4-Fluorphenylethansäure wird abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Beim Neutralisieren des Filtrats mit Ammoniaklösung (26 %) fällt 2 als hellbeiger Niederschlag aus, der abfiltriert, mit Wasser gewaschen und über P₂O₅ getrocknet wird.

Ausbeute: 18,9 g/42,3 %

Schmelzpunkt: 216 °C

5 ¹H-NMR(DMSO): δ(ppm) 4.48 (s, 2H, CH₂), 7.11-7.21 (m, 2H, 4-F-Ph), 7.26-7.34 (m, 2H, 4-F-Ph), 7.89-7.92 (dd, 2H, 4-Pyr), 8.82-8.85 (dd, 2H, Pyr)

2-(4-Fluorphenyl)-1-pyridin4-yl-ethanon-oxim (3)

10

In einer 50%igen wässrigen Methanollösung wird 2 (0,1 mol/21,5 g) suspendiert. Nach Zugabe von Natriumacetat (0,44 mol/36,1 g) und Hydroxylaminhydrochlorid (0,32 mol/22,0 g) wird das Reaktionsgemisch 1,5 h refluxiert. Beim Abkühlen im Eisbad fällt 3 als beigefarbener Niederschlag aus, der abfiltriert, mit Wasser ge-
waschen und im Vakuum über P₂O₅ getrocknet wird.

15

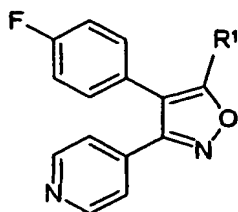
Ausbeute: 18,1 g/78,5 %

Schmelzpunkt: 154°C

20

¹H-NMR(DMSO): δ(ppm) 4.15 (s, 2H, CH₂), 7.04-7.13 (m, 2H, 4-F-Ph), 7.2-7.29 (m, 2H, 4-F-Ph), 7.61-7.64 (dd, 2H, 4-Pyr), 8.53-8.57 (dd, 2H, Pyr), 12.05 (s, 1H, OH)

25 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von 4-[4-(4-Fluorphenyl)-isoxazol-3-yl]pyridin der Formel:



In einem mit Argon gespülten Dreihalskolben wird **3** (3,0 g/13 mmol) in 30 ml THF (Tetrahydrofuran) auf -78°C abgekühlt. Beim Zutropfen von n-Butyllithium (15%ige Lösung in Hexan, 24 ml, 55 mmol) kommt es zu einem kurzzeitigen Temperaturanstieg auf -40°C und Rotfärbung der Lösung. Das Reaktionsgemisch wird 1 h bei -78°C gerührt. Der Ethylester $\text{R}^1\text{CO}_2\text{Et}$ wird in 10 ml THF gelöst zum Ansatz getropft: es erfolgt ein Temperaturanstieg auf etwa -55°C . Nach beendeter Zugabe wird 3,5 – 7 h bei -78°C gerührt. Bei Zugabe von 50 ml Wasser steigt die Temperatur und der Ansatz färbt sich hellgrün. Nach 30 min Stehen lassen werden die Phasen getrennt. Die Wasserphase wird mit 2 x 50 ml Diethylether extrahiert und über Nacht stehen gelassen. Das Produkt kristallisiert aus der Wasserphase aus. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Die organische Phase kann, wenn das Produkt nicht in der Wasserphase ausfällt, säulenchromatographisch (SiO_2 60, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{EtOH}=9,5:0,5$) aufgearbeitet werden.

Ausbeuten: 2,5 - 27,7 %

Nach diesem Verfahren wurden folgende Verbindungen erhalten:

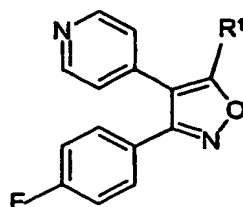
Verbindung Nr.	
1	4-[4-(4-Fluorphenyl)-5-methyl-isoxazol-3-yl]pyridine $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: $\delta(\text{ppm})$ 2.45 (s, 3H, CH_3), 7.06-7.20 (m, 4H, 4-F-Ph), 7.31-7.35 (d, 2H, 4-Pyr), 8.59-8.62 (d, 2H, 4-Pyr)
2	4-[4-(4-Fluorphenyl)-5-pyridinyl-isoxazol-3-yl]pyridine $^1\text{H-NMR}(\text{DMSO})$: $\delta(\text{ppm})$ 7.16-7.42 (m, 4H, 4-Pyr und 4H, 4-F-Ph), 8.61-8.67 (m, 4H, 2 x 4-Pyr)
3	N-{4-[4-(4-Fluorphenyl)-3-pyridin-4-yl-isoxazol-5-yl]-pyridin-2-yl}acetamid $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: $\delta(\text{ppm})$ 2.18 (s, 3H, CH_3), 7.11-7.15 (m, 1H, 4-Pyr-), 7.23-7.34 (m, 4H, 4-F-Ph und 2H 4-Pyr), 8.0 (s, 1H, NH), 8.25-8.28 (d, 1H, 4-Pyr), 8.39 (s, 1H, 4-Pyr), 8.59-8.63 (dd, 2H, 4-Pyr)

4	[4-(4-Fluorphenyl)-3-pyridin-4-yl-isoxazol-5-ylmethyl]-dimethylamin ¹ H-NMR(DMSO): δ(ppm) 2.12 / 2.15 (s, 2 x 3H, 2 x CH ₃), 7.29-7.34 (m, 6H, 4-F-Ph und 4-Pyr), 8.62-8.64 (dd, 2H, 4-Pyr)
5	4-[4-(4-Fluorphenyl)-5-phenyl-isoxazol-3-yl]pyridine ¹ H-NMR(CDCl ₃): δ(ppm) 7.11-7.42 (m, 9H, 4-Pyr, 4-F-Ph und Ar), 7.53-7.58 (m, 2H, 4-F-Ph), 8.60-8.63 (dd, 2H, 4-Pyr)
6	4-[4-(4-Fluorphenyl)-5-furan-2-yl-isoxazol-3-yl]pyridine ¹ H-NMR(DMSO): δ(ppm) 6.68-6.71 (m, 1H, Fur), 6.77-6.80 (dd, 1H, Fur), 7.30-7.39 (m, 4H, 4-Pyr und 4-F-Ph), 7.44-7.51 (m, 2H, 4 F-Ph), 7.92-7.93 (dd, 1H, Fur), 8.63-8.66 (dd, 2H, 4-Pyr)
7	4-[5-Cyclopropyl-4-(4-fluorphenyl)-isoxazol-3-yl]-pyridin ¹ H-NMR(DMSO): δ(ppm) 1.02-1.11(m, 4H, Cycloprop), 1.19-2.11 (m, 1H, Cycloprop), 7.24-7.40 (m, 6H, 4-F-Ph und 4-Pyr), 8.60-8.63 (d, 2H, 4-Pyr)
8	{4-[4-(4-Fluorphenyl)-3-pyridin-4-yl-isoxazol-5-yl]-phenyl}-dimethylamin ¹ H-NMR(CDCl ₃): δ(ppm) 3.03 (s, 6H, 2xCH ₃), 6.7-6.79 (d, 2H, Ar), 7.18-7.34 (m, 4H, 4-F-Ph), 7.38-7.43 (d, 2H, Ar), 7.89-7.91 (d, 2H, Pyr), 8.67-8.70 (d, 2H, Pyr)
9	4-[4-(4-Fluorphenyl)-5-piperidin-1-yl-isoxazol-3-yl]pyridine ¹ H-NMR(CDCl ₃): δ(ppm) 1.41-1.43 (m, 2H, -CH ₂), 1.55-1.63 (m, 4H, 2x-CH ₂ -), 3.5 (s, 1H, -CH ₂ -), 7.06-7.29 (m, 4H, 4-F-Ph), 7.32-7.36 (dd, 2H, Pyr), 8.59-8.61 (dd, 2H, Pyr)
10	4-[4-(4-Fluorphenyl)-5-(4-methoxyphenyl)-isoxazol-3-yl]-pyridine ¹ H-NMR(CDCl ₃): δ(ppm) 3.82 (s, 3H, -CH ₃), 6.84-6.89 (m, 2H, Ar), 7.09-7.34 (m, 6H, 4-F-Ph und 4-Pyr), 7.45-7.49 (m, 2H, Ar), 8.58-8.61 (dd, 2H, Pyr)
11	4-[5-(Ethoxyphenyl)-4-(4-fluorphenyl)-isoxazol-3-yl]-pyridine ¹ H-NMR(CDCl ₃): δ(ppm) 1.38-1.61 (t, 3H, -CH ₃), 3.98-4.09 (q, 2H, -CH ₂ -) 6.82-6.87 (m, 2H, Ar), 7.09-7.25 (m, 6H, 4-F-Ph und 4-Pyr), 7.30-7.33 (m, 2H, Ar), 8.57-8.6 (dd, 2H, Pyr)
12	4-[4-(4-Fluorphenyl)-5-methoxymethyl-isoxazol-3-yl]-pyridine ¹ H-NMR(CDCl ₃): δ(ppm) 3.42 (s, 3H, -CH ₃), 4.48 (s, 2H, -CH ₂ -) 7.06-7.23 (m, 4H, 4-F-Ph), 7.26-7.36 (dd, 2H, 4-Pyr), 8.59-8.62 (dd, 2H, Pyr)

Beispiel 2

Herstellung von 3-(4-Fluorphenyl)-4-(4-pyridinyl)-isoxazolen der Formel:

5



4-Fluor-N-methoxy-N-methyl-benzamid (1)

- 10 Eine Mischung aus O,N-Dimethylhydroxylamin-hydrochlorid (9,7 g/0,1 mol) und Triethylamin (30,4 ml/0,218 mol) in 165 ml Dichlormethan wird im Eisbad auf 0 °C abgekühlt und 1 h weitergerührt. 4-Fluorbenzoylchlorid (12 ml/0,1 mol) wird wäh-
- 15 rend 15 min unter Eiskühlung zugetropft. Nach 2 h wird die Eiskühlung entfernt und noch 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Es bildet sich eine weiße Suspension, die mit 100 ml H₂O versetzt wird. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase wird mit 3 x 50 ml Diethylether extrahiert. Der vereinigte organi-
- sche Extrakt wird über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Die Verbindung 1 kristallisiert nach Abkühlen und Anreiben aus.

20 Ausbeute: 12,5 g / 68,23 %

¹H-NMR(CDCl₃): δ(ppm) 3.35 (s, 3H, CH₃), 3.53 (s, 3H, OCH₃), 7.04-7.13 (m, 2H, 4-F-Ph), 7.71-7.78 (m, 2H, 4-F-Ph)

25 1-(4-Fluorphenyl)-2-pyridin-4-yl-ethanon (2)

In einen mit Argon gespülten Dreihalskolben wird Diisopropylamin (20,5 g/0,2 mmol) in 200 ml THF vorgelegt, auf -78 °C abgekühlt und kurz nachgerührt. Beim Zutropfen von n-Butyllithium (15%ige Lösung in Hexan, 91 ml,

0,21 mmol) kommt es zu einem kurzzeitigen Temperaturanstieg auf $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Das Reaktionsgemisch wird 1 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Es entsteht eine klare hellgelbe Lösung. Picolin (9 g/97 mmol) wird in 10 ml THF zum Ansatz getropft: Temperaturanstieg auf $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ und sofortige Rotfärbung. Nach beendeter Zugabe wird 1 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und 1 (15 g/82 mmol) in THF gelöst wird innerhalb von 2 min zuge-
 5 tropft. Nach kurzem Temperaturanstieg auf $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ wird das Reaktionsgemisch 1,5 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ und anschließend 1 h bei $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Der Ansatz wird auf ein Gemisch aus 100 ml gesättigter NaCl-Lösung, die mit 100 ml Ethylacetat überschichtet ist, gegeben. Die organische Phase wird abgetrennt und die Wasserphase mit 3 x 70 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Das orange ölige Reaktionsgemisch wird entweder säulenchromatographisch aufgereinigt (EtOH: $\text{CH}_2\text{Cl}_2=0,5:9,5$) oder als Rohprodukt weiter umgesetzt.

15 Ausbeute: 8,1 g/38,9 %

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: $\delta(\text{ppm})$ 4.27 (s, 2H, CH_2), 7.12-7.21 (m, 4H, 4-F-Ph und 4-Pyr), 7.99-8.07 (m, 2H, 4-F-Ph), 8.56-8.59 (m, 2H, 4-F-Pyr)

20 1-(4-Fluorphenyl)-2-pyridin4-yl-ethanon-oxim (3)

Die Verbindung wird analog zur Verbindung 3, Beispiel 1, hergestellt.

25 Ausbeute: 20,7 g/90 %

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: $\delta(\text{ppm})$ 4.21 (s, 2H, CH_2), 6.99-7.08 (m, 2H, 4-F-Ph), 7.21-7.27 (dd, 2H, 4-Pyr), 7.54-7.63 (m, 2H, 4-Pyr), 8.49-8.53 (dd, 2H, 4-Pyr), 9.85 (s, 1H, -OH)

30 4-Fluorbenzaldehydoxim (4A) und Benzaldehydoxim (4B)

Zu einem Gemisch aus 60 ml H₂O + 90 ml Eis + 60 ml EtOH, 4-Fluorbenzaldehyd (24,5 g/0,2 mol) bzw. Benzaldehyd (21,2 g/0,2 mol) und Hydroxylaminhydrochlorid (19 g/0,27 mol) werden 150 ml einer 50%igen NaOH-Lösung getropft. Der Reaktionsansatz wird ins Eisbad gestellt, um die Temperatur < 30 °C zu halten. Man rührt 1 h bei Raumtemperatur, kühlt im Eisbad, neutralisiert mit HCl_{conc} auf pH 6, extrahiert mit 2 x 200 ml Diethylether, trocknet über Na₂SO₄ und engt im Vakuum ein.

Ausbeute: 4A: 12,6 g/45 %
 4B: 18,6 g/76,9 %

4-Fluorbenzylchloromethanoxim (5A) und Benzylchloromethanoxim (5B)

Zu einer Lösung von 4A (12,5 g/0,09 mol) bzw. 4B (10,9 g/0,09 mol) in 100 ml DMF wird unter Rühren bei Raumtemperatur N-Chlorsuccinimid (12 g/0,09 mol) als Feststoff zugegeben. Nach Zugabe von 10 % der N-Chlorsuccinimidmenge wird zum Starten der Reaktion die Gasphase einer HCl_{conc}-Flasche eingesprudelt. Bei weiterer N-Chlorsuccinimid-Zugabe kommt es zu einem kurzzeitigen Temperaturanstieg auf 50 °C und die Reaktionslösung färbt sich hellgelb. Nach Rühren bei Raumtemperatur (1 h) wird der Ansatz mit 300 ml Eiswasser versetzt und 3 x mit 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten Diethyletherphasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingeengt.

Ausbeute: 5A: 7,49 g/51 %
 5B: 13,4 g/95 %

2-Methanpropanoxim (6)

Zu einer Lösung von Isobutyraldehyd (4,5 ml/0,05 mol) in Methanol (150 ml) wird langsam ein Gemisch aus Hydroxylamin-hydrochlorid (7,0 g/0,1 mol) und NaHCO₃ (8,4 g/0,1 mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 45 min refluxiert und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Der Niederschlag (NaCl) wird abfiltriert, das

Filtrat im Vakuum eingengt. Das farblose ölige Rohprodukt wird ohne Aufarbeitung weiterverwendet.

Ausbeute: 1,36 g/32,2 %

5

1-Chloro-2-methylpropanoxim (7)

Zu einer Lösung von 6 (2,7 g/0,031 mol) in 100 ml CH_2Cl_2 bei 0 °C wird BTMA $\text{ICl}_4^{(1)}$ (12,5 g/0,031 mol) als Feststoff zugegeben. Die gelbe Suspension verfärbt sich von gelb über orange nach hellgrün. Nach 1 h Rühren bei 0 °C wird mit 100 ml Diethylether BTMA ICl_2 ausgefällt. Der Niederschlag wird abfiltriert und das Filtrat im Vakuum bei 10 °C eingengt. Das ölige Rohprodukt wird ohne Aufarbeitung weiterverwendet.

10

15 Ausbeute: 2,1 g/55,7 %

⁽¹⁾ BTMA ICl_4 Benzyltrimethylammonium Tetrachloriodat

20

4-[3-(4-Fluorphenyl)-5-phenylisoxazol-4-yl]-pyridin (13) und 4-[3,5-Bis-(4-fluorphenyl)isoxazol-4-yl]-pyridin (14)

25

Eine Lösung von 3 (2,3 g/10 mmol) wird in 100 ml CH_2Cl_2 auf 0°C abgekühlt und mit Triethylamin (2,8 g/27 mmol) versetzt. Nach 45 min Rühren bei 0 °C wird 5A bzw. 5B (4 g/23 mmol) in 20 ml CH_2Cl_2 zugetropft. Nach 12 Rühren von 0 °C bis Raumtemperatur wird der Niederschlag (Triethylamin x HCl) abfiltriert und die CH_2Cl_2 -Phase einrotiert. Die organische Phase wird säulenchromatographisch (SiO_2 60, CH_2Cl_2 :EtOH=9,5:0,5) aufgearbeitet.

Ausbeute: 13A: 0,53 g/17 %

30

13B: 0,43 g/12,9 %

4-[3-(4-Fluorphenyl)-5-phenylisoxazol-4-yl]-pyridin (13)

¹H-NMR(CDCl₃): δ(ppm) 7.06-7.20 (m, 4H, 4-F-Ph und 4-Pyr), 7.38-7.42 (m, 4H, Ph), 7.49-7.54 (m, 2H, 4-F-Ph), 8.63-8.67 (dd, 2H, 4-Pyr)

5

4-[3,5-Bis-(4-fluorphenyl)-isoxazol-4-yl]-pyridin (14)

¹H-NMR(CDCl₃) δ(ppm) 6.99-7.16 (m, 6H, 2 x 4-F-Ph), 7.32-7.39 (m, 2H, 4-Pyr), 7.46-7.53 (m, 2H, 4-F-Ph), 8.62-8.65 (dd, 2H, 4-Pyr)

10

4-[3-(4-Fluorphenyl)-5-isopropyl-isoxazol-4-yl]-pyridin (15)

Eine Lösung von 3 (0,7 g/3,4 mmol) wird in 50 ml CH₂Cl₂ auf 0 °C abgekühlt und mit Triethylamin (1,2 g/12 mmol) versetzt. Nach 45 min Rühren bei 0 °C wird 7 (1,8 g/14,9 mmol) unverdünnt zugetropft. Nach 12 h Rühren von 0 °C bis Raumtemperatur wird der Niederschlag (Triethylamin x HCl) abfiltriert und die CH₂Cl₂-Phase wird einrotiert. Die organische Phase wird säulenchromatographisch (SiO₂ 60, CH₂Cl₂:EtOAc=4:6) aufgearbeitet.

20

Ausbeute: 0,043 g

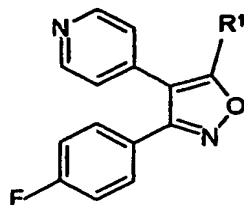
¹H-NMR(CDCl₃): δ(ppm) 1.34 (s, 3H, -CH₃), 1.37 (s, 3H, -CH₃), 3.13-3.20 (m, 1H, CH) 6.97-7.1 (m, 4H, 4-F-Ph und 4-Pyr), 7.32-7.39 (m, 2H, 4-Pyr), 8.59-8.63 (dd, 2H, 4-Pyr)

25

Beispiel 3

Herstellung von 3-(4-Fluorphenyl)-4-(4-pyridinyl)-isoxazolen der Formel:

5



3-(4-Fluorphenyl)-4-pyridin-4-yl-isoxazol-5-yl-amin (16)

10 Zu einer Lösung von 4-Pyridinylacetonitril (2,97 g/0,025 mol) in THF wird bei Raumtemperatur eine Lösung von NaEtOH (1,7 g/0,025 mol) in 40 ml EtOH zugegeben. Nach Abkühlen des Reaktionsgemisches auf 0 °C wird 4-Fluorbenzylchloromethanoxim in Ethanol gelöst, während 10 min zugetropft und noch 1 h bei 0°C gerührt. Nach anschließendem Erwärmen 1 h/45 °C wird der Ansatz einrotiert

15 in 200 ml Wasser aufgenommen und mit CH₂Cl₂ versetzt. Das Produkt **16** fällt als roter Niederschlag aus.

Ausbeute: 3,05 g/47,8 %

20 ¹H-NMR(CDCl₃): δ(ppm) 4.91 (s, 2H, NH₂, austauschbar), 7.03-7.12 (m, 4H, 4-F-Ph und 4-Pyr), 7.38-7.45 (m, 2H, 4-F-Ph), 8.53-8.56 (dd, 2H, 4-Pyr)

4-[3-(4-Fluorphenyl)isoxazol-4-yl]pyridin (17)

25

In einem Gemisch aus 20 ml Eisessig, 10 ml H₂O und 10 ml THF wird **16** (0,7 g/2,74 mmol) gelöst. NaNO₂ (1,9 g/27,4 mmol) wird bei Raumtemperatur während 1 h portionsweise zugegeben. Nach 30 min Rühren wird mit Wasser verdünnt und mit 3 x 50 ml CH₂Cl₂ ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen wer-

den über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingengt. Das Produkt wird säulenchromatographisch aufgereinigt ($\text{EtOAc}:\text{CH}_2\text{Cl}_2=7:3$). Als Hauptprodukt entsteht 4-(4-Fluorphenylethynyl)-pyridin.

5 Ausbeute: 51,54 mg/7,84 %

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: $\delta(\text{ppm})$ 7.08-7.20 (m, 4H, 4-F-Ph und 4-Pyr), 7.44-7.51 (m, 2H, 4-F-Ph), 8.60-8.62 (dd, 2H, 4-Pyr), 8.67 (s, 1H, -CH)

10

$^{(1)}\text{BTMA} \times \text{ICl}_4$: Benzyltrimethylammonium Tetrachloriodat

Beispiel 4

4-(4-Fluorphenyl)-3-(4-pyridinyl)-isoxazol

15

Chlorpyridinylmethanoxim (1)

Zu einer Lösung von 4-Pyridinaldoxim (2,5 g/0,02 mol) in 100 ml CH_2Cl_2 bei 0 °C wird BTMA $\text{ICl}_4^{(1)}$ (8,38 g/0,02 mol) als Feststoff zugegeben. Die gelbe Suspension färbt sich unter leichter Temperaturerhöhung orange. Nach 6 h Rühren bei Raumtemperatur wird der Niederschlag von 1 abfiltriert.

20

Ausbeute: 2,9 g/95 %

25

$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO})$ $\delta(\text{ppm})$ 8.12-8.15 (dd, 2H, 4-Pyr), 8.87-8.90 (dd, 2H, 4-Pyr), 13.6 (s, 1H, OH)

4-(4-Fluorphenyl)-3-pyridin-4-yl-isoxazol-5-ylamin (18)

30

Zu einer Lösung von 4-Fluorphenylacetonitril (0,68 g/5 mmol) in DMF (Dimethylformamid) wird bei Raumtemperatur eine Lösung von NaOEt (0,34 g/5 mol) in 10 ml EtOH zugegeben, 30 min beigerührt, 1 (0,785 g/5 mmol) in DMF gelöst, während 10 min zugetropft und noch 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz

wird in 100 ml Wasser aufgenommen und mit 3 x 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert, über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Das Reaktionsgemisch wird säulenchromatographisch aufgereinigt (EtOAc:CH₂Cl₂=6:4).

5 Ausbeute: 20 mg

¹H-NMR(CDCl₃): δ(ppm) 4.66 (s, 2H, NH₂), 7.06-7.22 (m, 4H, 4-F-Ph), 7.34-7.37 (dd, 2H, 4-Pyr), 8.59-8.62 (dd, 2H, 4-Pyr)

10

4-[4-(4-Fluorphenyl)isoxazol-3-yl]pyridin (19)

Die Verbindung wird analog (17), Beispiel 3, hergestellt.

Ausbeute: 110 mg /29%

15

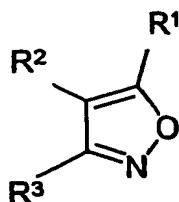
¹H-NMR(CDCl₃), δ (ppm): 7.05-7.14 (m, 2H, 4-F-Ph);
7.20-7.24 (m, 2H, 4-F-Ph); 7.39-7.42 (dd, 2H, 4-Pyr);
8.56 (s, 1H, C5); 8.64-8.67 (dd, 2H, 4-Pyr)

20

259/sg-mm

Patentansprüche

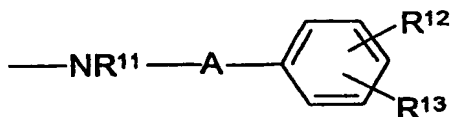
1. Substituierte Isoxazolderivate der Formel I



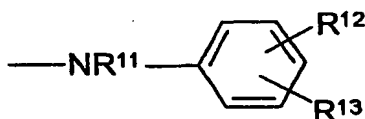
worin

R¹ ausgewählt ist unter

- a) H;
- b) C₁-C₆-Alkyl, das 1 oder 2 Substituenten aufweisen kann, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter NR⁴R⁵ und OR⁶;
- c) einem aromatischen oder nicht-aromatischen Heterocyclus mit 5 oder 6 Ringatomen, der 1, 2 oder 3 Heteroatome aufweist, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter N, O und S, wobei der Heterocyclus 1 oder 2 Substituenten aufweisen kann, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter C₁-C₆-Alkyl, Halogen, CF₃, OR⁶, NR⁷R⁸, NR⁹COR¹⁰, einem Rest der Formel

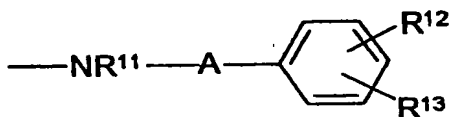


oder einem Rest der Formel

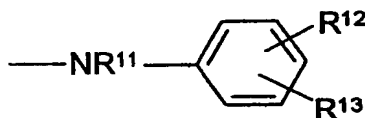


- d) Phenyl, das 1, 2 oder 3 Substituenten aufweisen kann, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter NR^7R^8 , OR^6 , $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-Alkyl}$, Halogen, CF_3 , CN , NO_2 und CO_2R^6 ;
- e) Phenyl- $\text{C}_1\text{-C}_4\text{-alkyl}$;
- f) $\text{C}_3\text{-C}_8\text{-Cycloalkyl}$; und
- g) NR^7R^8 ;

einer der Reste R^2 und R^3 für einen aromatischen heterocyclischen Rest mit 5 oder 6 Ringatomen steht, der 1 oder 2 Heteroatome aufweist, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter N, O und S, wobei der aromatische heterocyclische Rest 1 oder 2 Substituenten aufweisen kann, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-Alkyl}$, Halogen, CF_3 , OR^6 , NR^7R^8 , $\text{NR}^9\text{COR}^{10}$, einem Rest der Formel



oder einem Rest der Formel



und

der zweite der Reste R^2 und R^3 für Aryl steht, das gegebenenfalls durch ein Halogenatom substituiert ist;

R^4 und R^5 unabhängig voneinander für H, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-Alkyl}$, Phenyl oder Phenyl- $\text{C}_1\text{-C}_4\text{-alkyl}$ stehen oder zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen gesättigten 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus mit 1 oder

2 Heteroatomen bilden, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter N und O;

R^6 , R^7 und R^8 unabhängig voneinander für H oder C_1 - C_6 -Alkyl stehen;

R^9 für H, C_1 - C_6 -Alkyl oder Benzyl steht;

R^{10} für C_1 - C_6 -Alkyl, C_3 - C_6 -Cycloalkyl oder Phenyl, das 1 oder 2 Substituenten aufweisen kann, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter C_1 - C_6 -Alkyl, C_1 - C_6 -Alkoxy und Halogen, steht;

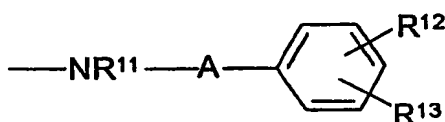
R^{11} für H, C_1 - C_6 -Alkyl oder Phenyl- C_1 - C_4 -alkyl steht;

R^{12} und R^{13} unabhängig voneinander für H, Halogen, C_1 - C_6 -Alkyl oder C_1 - C_6 -Alkoxy stehen; und

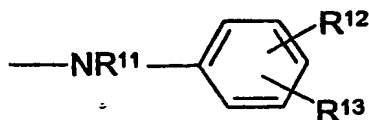
A für geradkettiges oder verzweigtes C_1 - C_6 -Alkylen steht; und

die optischen Isomere und physiologisch verträglichen Salze davon.

2. Verbindungen nach Anspruch 1, wobei R^2 für Phenyl steht, das gegebenenfalls durch 1 oder 2 Halogenatome substituiert ist, und R^3 für einen aromatischen heterocyclischen Rest mit 5 oder 6 Ringatomen steht, der 1 oder 2 Heteroatome aufweist, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter N, O und S, wobei der aromatische heterocyclische Rest 1 oder 2 Substituenten aufweisen kann, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter C_1 - C_6 -Alkyl, Halogen, CF_3 , OR^6 , NR^7R^8 , NR^9COR^{10} , einem Rest der Formel

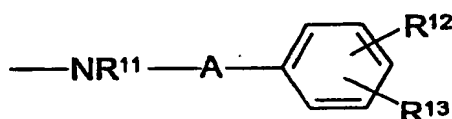


oder einem Rest der Formel

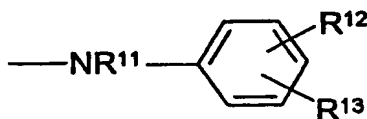


steht.

- 5 3. Verbindungen nach Anspruch 1, wobei R^2 für einen aromatischen heterocyclischen Rest mit 5 oder 6 Ringatomen steht, der 1 oder 2 Heteroatome aufweist, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter N, O und S, wobei der aromatische heterocyclische Rest 1 oder 2 Substituenten aufweisen kann, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter C_1 - C_6 -Alkyl, Halogen, CF_3 , OR^6 , NR^7R^8 , NR^9COR^{10} , einem Rest der Formel



und einem Rest der Formel



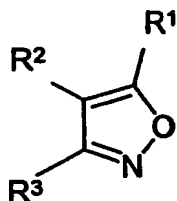
und R^3 für Phenyl, das gegebenenfalls durch 1 oder 2 Halogenatome oder CF_3 -Gruppen substituiert ist, steht.

- 20 4. Verbindungen nach Anspruch 2 oder 3, wobei der aromatische heterocyclische Rest ein 4-Pyridylrest ist.
- 25 5. Verbindungen nach Anspruch 4, wobei der 4-Pyridylrest unsubstituiert ist oder in 2-Position einen Substituenten aufweist, der ausgewählt ist unter Halogen, OH, NR^7R^8 und NR^9COR^{10} , wobei R^7 bis R^{10} die in Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen besitzen.

6. Verbindungen nach einem der Ansprüche 1, 2, 4 oder 5, wobei R^1 für H, Phenyl, das 1 oder 2 Halogensubstituenten aufweisen kann, NR^7R^8 oder C_1-C_6 -Alkyl steht, wobei R^7 und R^8 die in Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen besitzen.
7. Verbindungen nach einem der Ansprüche 1, 3, 4 oder 5, wobei R^1 für C_1-C_6 -Alkyl, das durch NR^4R^5 oder OR^6 substituiert ist, einen aromatischen heterocyclischen Rest mit 5 oder 6 Ringatomen, der 1 oder 2 Heteroatome aufweist, die unabhängig voneinander ausgewählt sind unter N und O, wobei der Heterocyclus gegebenenfalls durch NR^9COR^{10} substituiert ist, Phenyl, das gegebenenfalls durch NR^7R^8 oder C_1-C_6 -Alkoxy substituiert ist, NR^7R^8 oder C_3-C_6 -Cycloalkyl steht.
8. Pharmazeutisches Mittel, enthaltend wenigstens eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, gegebenenfalls zusammen mit einem oder mehreren pharmazeutisch akzeptablen Träger- und/oder Zusatzstoffen.
9. Verwendung wenigstens einer der Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 7 zur Herstellung eines pharmazeutischen Mittels zur Behandlung von immunologisch vermittelten entzündlichen Erkrankungen.
10. Verfahren zur Behandlung von immunologisch vermittelten entzündlichen Erkrankungen, wobei man einer Person, die einer derartigen Behandlung bedarf, eine immunmodulierend wirkende und/oder die Cytokinfreisetzung hemmende Menge einer Verbindung der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 7 verabreicht.

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft substituierte Isoxazolderivate der Formel I



worin die Reste R^1 , R^2 und R^3 die in der Beschreibung angegebene Bedeutung besitzen. Die erfindungsgemäßen Verbindungen besitzen eine immunmodulierende und/oder die Cytokinfreisetzung hemmende Wirkung und sind daher geeignet zur Behandlung von Erkrankungen, die mit einer Störung des Immunsystems im Zusammenhang stehen, insbesondere immunologisch vermittelte entzündliche Erkrankungen.